ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE 1981 N° 82

EXAMEN BIOCHIMIQUE RAPIDE DE L'URINE DU CHAT COMPARAISON DES BANDELETTES ET COMPRIMES REACTIFS AVEC LES METHODES USUELLES D'ANALYSE

THESE

POUR LE DOCTORAT VETERINAIRE
(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en 1981
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

par

AUDOUEINEIX Michel, Jean, Louis
Né, le 5 Janvier 1954 à MONTFERMEIL (Seine et Oise)

MEMBRES DU JURY

Président	Monsieur FEDOU Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse
Assesseur	Monsieur GUELFI Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Assesseur	Monsieur RICO Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

COREP ASSISTANCE
21, rue Viguerie
31300 TOULOUSE
Tél. (61) 42.01.19

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543924_0050

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE 1981 N.° 82

EXAMEN BIOCHIMIQUE RAPIDE DE L'URINE DU CHAT COMPARAISON DES BANDELETTES ET COMPRIMES REACTIFS AVEC LES METHODES USUELLES D'ANALYSE

THESE

POUR LE DOCTORAT VETERINAIRE
(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en 1981
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

par

AUDOUEINEIX Michel, Jean, Louis
Né, le 5 Janvier 1954 à MONTFERMEIL (Seine et Oise)

MEMBRES DU JURY

Président	Monsieur FEDOU Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse
Assesseur	Monsieur GUELFI Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Assesseur	Monsieur RICO Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

COREP ASSISTANCE
21, rue Viguerie
31300 TOULOUSE
Tél. (61) 42.01.19

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	M. LAUTIE
Directeur honoraire	M. FLORIO
Professeurs honoraires	MM. BRIZARD BERTHELON SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire	M. GODFRAIN
Professeur sans chaire	Mme BURGAT-SACAZE

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire	M. RICO
Professeur sans chaire	M. BRAUN
Maître Assistant	M. BENARD

Physique Biologique et Médicale
Chimie Biologique et Médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire	M. PAVAUX
Maître Assistant	M. LIGNEREUX
Maître Assistant	M. SAUTET

Anatomie Descriptive - Extérieur - Anatomie Appliquée - Tératologie

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire	M. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire	M. FARGEAS
Maître Assistant Agrégé	M. TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie et Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire	M. VAN HAVERBEKE
Professeur sans Chaire	M. CABANIE
Maître Assistant Agrégé	M. MAGNOL

Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire	M. LABIE
Maître de Conférences	M. EECKHOUTTE
Maître Assistant Agrégé	Mme BENARD

Hygiène - Inspection - Contrôle et Technologie
des denrées alimentaires d'origine animale

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire	M. DORCHIES
Maître de Conférences	M. FRANC
Maître Assistant	M. DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Parasitologie externe - Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES

Professeur titulaire ..... M. LESCURE
Maître de Conférences ..... M. GUELFI
Maître-Assistant ..... REGNIER

Sémiologie et pathologie médicale des équidés et carnivores
Législation vétérinaire et Déontologie clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire ..... M. TOURNUT
Maître de Conférences ..... M. BEZILLE
Maître Assistant ..... M. JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour
Clinique - Clinique ambulatoire

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire ..... M. CAZIEUX
Maître Assistant Agrégé ..... M. GENEVOIS
Maître Assistant ..... M. AUTEFAGE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale - Technique Chirurgicale
Pathologie Chirurgicale - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire ..... M. FERNEY
Professeur sans chaire ..... M. ROYAL
Maître Assistant Agrégé ..... M. TAINTURIER

Sémiologie et Propédeutique - Pathologie de la Reproduction
Obstétrique - Clinique

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire ..... M. CHANTAL
Maître de Conférences ..... M. GANIERE
Maître Assistant ..... PICAVET

Maladies contagieuses - Zoonoses - Législation Sanitaire

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. LAUTIE

Maître Assistant ..... M. PELLERIN

Microbiologie - Immunologie - Pathologie Générale

CHAIRE DE ZOOTECHNIE ET ECONOMIE RURALE

Professeur titulaire ..... M. QUEINNEC
Professeur sans chaire ..... DARRE
Maître Assistant ..... Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène générale - Zootechnie - Elevage
Economie Générale et des productions animales

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire ..... M. FALIU
Professeur sans chaire ..... M. GRIESS

Botanique appliquée et Bromatologie- Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs : ANGELIER, ARMENGAUD, AUVERGNAT, BLANC, BOURBON, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET, LE BIHAN, MAZENC, RIVES.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsable des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924).

A MES PARENTS,

Qui me permirent de poursuivre mes études.
En gage de ma profonde reconnaissance.

A MA FEMME, MARTINE

Qui m'a beaucoup aidé dans ce travail.

A NOLWENN

A MA FAMILLE.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE,

Monsieur le Professeur FEDOU
de l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse. Hommage respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE,

Monsieur le Professeur GUELFI
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui nous a permis de réaliser ce travail.
Qu'il trouve ici l'expression de notre sincère gratitude.

Monsieur le Professeur RICO
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui nous a honnoré en acceptant de faire parti de notre jury.
Profonde gratitude.

S O M M A I R E.

INTRODUCTION - Pages

- But de l'étude
- Annonce du plan 1

1º CHAPITRE - MATERIEL ET METHODES.

I - Effectif animal 2

II - Prélèvements d'urines 2

a) Technique:
1º) Palpation 2
2º) Cathétérisme ... 5
3º) Cystocentèse ... 5

b) Qualité du prélèvement 6

III - Réactifs et technique d'utilisation.

a) Matériel utilisé 6

b) Mode d'emploi 7

c) Multistix:
1º) pH 7
2º) protéines 8
3º) glucose 9
4º) corps cétoniques 10
5º) bilirubine 10
6º) sang 10
7º) urobilinogène .. 11

d) Ictotest 12

e) Précautions d'emploi - Conservation 12

IV - Méthode 14

2e CHAPITRE - RESULTATS: Pages

I - Détermination de pH 15
II - Recherche des protéines 16
III - " du glucose 20
IV - " des corps cétoniques . 22
V - " du sang 22
VI - " de la bilirubine 23
VII - " de l'urobilinogène ... 24

3e CHAPITRE - ANALYSE DES RESULTATS.

I - Détermination du pH 29
II - Recherche des protéines 32
III - " du glucose 37
IV - " des corps cétoniques . 40
V - " de la bilirubine 42
VI - " du sang 43
VII - " de l'urobilinogène .. 47

CONCLUSION. 49

-:-:-:-:-:-:-

I N T R O D U C T I O N.

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

L'utilité des bandelettes réactives n'est plus à démontrer, tant en médecine humaine pour les dépistages systématiques, qu'en médecine vétérinaire en pratique courante grâce à son faible coût, à sa facilité d'utilisation et à l'obtention de résultats immédiats.

En médecine féline, leur utilité est accrue du fait de la difficulté rencontrée pour se procurer des prélèvements de volume suffisant.

Malheureusement, la pratique quotidienne d'analyse d'urine avec les bandelettes, amène à constater la répétition de résultats aberrants ou inexplicables, d'autant plus génants qu'il est, le plus souvent, impossible de les vérifier.

Il nous a paru intéressant d'étudier sur un échantillonnage le plus étendu possible, le degré d'impact de ces erreurs et d'essayer de les expliquer.

Nous avons donc choisi une bandelette regroupant la majorité des analyses d'urine classiques:

MULTISTIX - donnant 7 paramètres urinaires:

- pH
- protéines
- glucose
- corps cétoniques
- bilirubine
- sang
- urobilinogène

et les comprimés ICTOTEST (*) permettant la recherche de la bilirubine.

Nous présenterons ces bandelettes et ces comprimés dans une première partie, ainsi que le mode de prélèvement.

La deuxième partie sera expérimentale.

Nous analyserons, avec les bandelettes et les comprimés, des urines de chats.

Nous comparerons ces résultats avec ceux obtenus par des analyses classiques utilisées au laboratoire.

Enfin, nous interprèterons les résultats dans la troisième partie.

-:-:-:-:-:-:-:-

(*) AMES, département des laboratoires MILES, diffusés par le laboratoire R. BELLON.

C H A P I T R E P R E M I E R.

MATERIEL & METHODES.

- I - EFFECTIF ANIMAL.

L'étude portant sur l'utilisation des bandelettes réactives en pratique courante de la médecine vétérinaire, nous avons effectué nos analyses sur des chats malades présentés à la consultation du service de pathologie médicale des équidés et des carnivores domestiques de l'Ecole Nationale de Toulouse, ainsi que sur ceux qui y furent hospitalisés.

Nous avons pu, ainsi, tester les urines de 48 Chats (19 femelles et 29 mâles dont 11 étaient castrés).

- II - PRELEVEMENTS.

a) Technique: Différentes méthodes peuvent être utilisées pour prélever l'urine chez le chat:

1°) - Palpation
2°) - Cathétérisme
3°) - Cystocentèse

1°) - La palpation:

L'urine des chats des deux sexes peut être aisément récoltée par une palpation modérée de la vessie dont ULLRICH (32) nous donne la technique. (contention - fig. 1)

"Tenir de la main droite un tube à essai muni d'un entonnoir (il nous a paru plus pratique d'utiliser un verre à pied) et le placer de telle sorte que l'entonnoir se trouve exactement en face de l'orifice sexuel de l'animal et que l'urine émise tombe nécessairement dans le tube à essai.

....

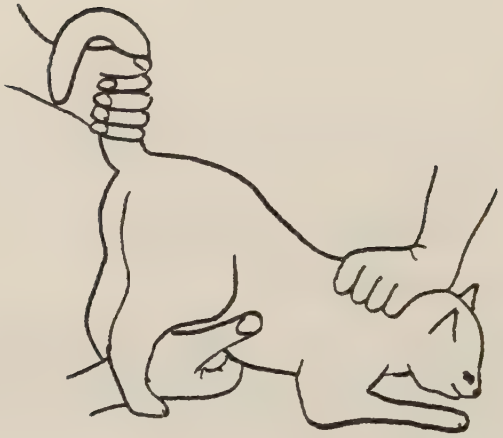


Figure 1.

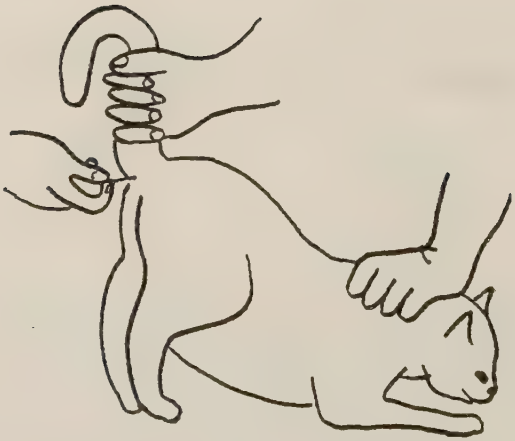


Figure 2.

Contention du Chat.

Simultanément, de la main gauche, on palpe la vessie, supposée pleine, régulièrement et sans trop appuyer. Généralement, il y a relachement du sphincter vésical et on obtient ainsi, en peu de temps, un plein tube à essai d'urine; assurément plus vite qu'en la faisant s'égoutter par l'étroite lumière d'un cathéter."

2°) - Le cathétérisme:

Il est possible de récolter l'urine chez le chat à l'aide d'une sonde et d'une seringue.

Pour ceci, on utilise des cathéters fins (Ø 1 mm) en plastique souple; tous les cathéters rigides sont à écarter à cause des risques de traumatisme. (Contention fig. 2)

Après avoir retroussé le prépuce, on extériorise le pénis en arrière et on introduit le cathéter, bien huilé avec de la vaseline pour faciliter le glissement, en le poussant doucement vers l'intérieur jusqu'à ce que l'urine s'égoutte goutte à goutte. (fig. 3)

L'urètre - chez le chat mâle - est entouré de muscles qui peuvent se contracter et gêner l'introduction du cathéter. Il est donc parfois nécessaire d'anesthésier ou, tout au moins, d'administrer un tranquilisant au chat, avant l'introduction du cathéter.

Pour cathétériser une chatte, on prend une pince à mors mousse avec laquelle on tendra le cul de sac vaginal. L'orifice urètral se trouve placé sur le plancher du cul de sac et apparait sous la forme d'une petite dépression tout près de l'orifice du vagin. (cf fig. 4)

Il n'existe pas de diverticulum suburètral.

3°) - La cystocentèse:

Quand il est absolument essentiel d'obtenir un échantillon d'urine ou quand celui-ci doit être stérile, il est possible de recolter l'urine par cystocentèse, à travers la paroi abdominale.

Bien que les risques de cette méthode soient assez faibles, la possibilité de sérieux traumatismes n'est pas à négliger du fait de la ponction en aveugle.

A cause des difficultes de contention pour le cathetérisme et des risques pour la ponction, nous avons eu recours pour nos prelevements, à la méthode par palpation transabdominale, réservant le cathétérisme aux chats mâles suffisamment abattus pour lesquels celle-ci avait échoué.

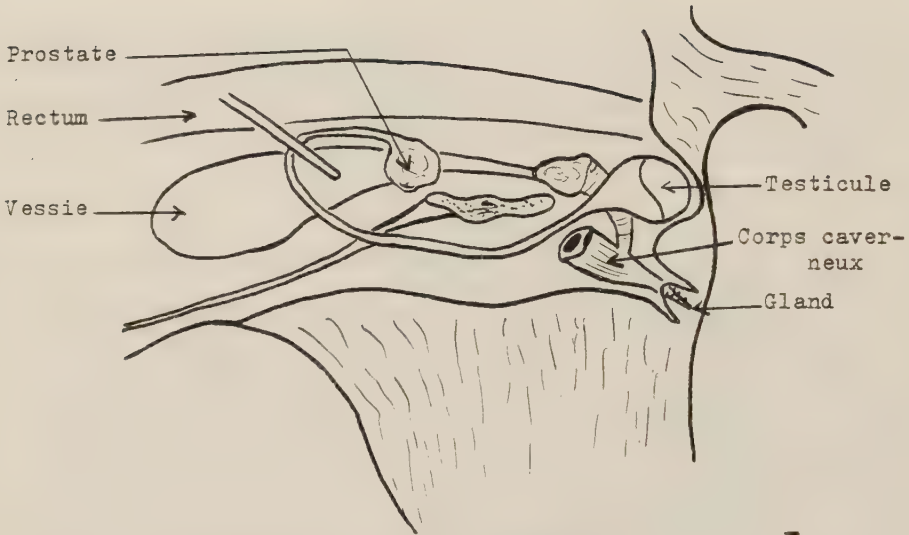


Figure 3. Tractus urogénital du chat ♂ (RICO)

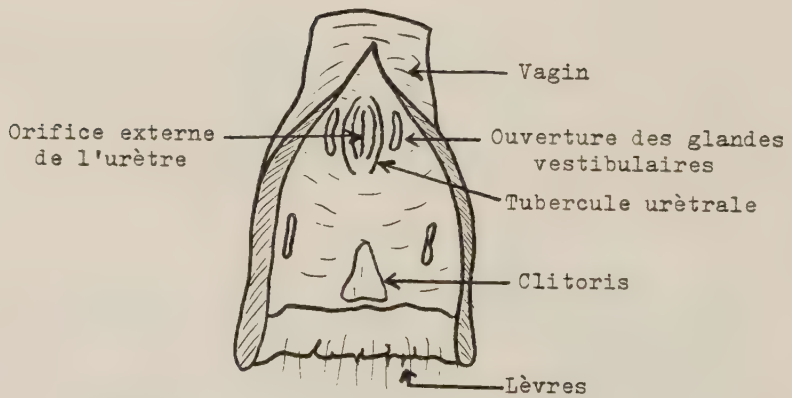


Figure 4. Situation anatomique de l'orifice Urètral de la chatte (CROUCH).

b) - Qualité du prélèvement.

Afin d'avoir de bons récultats, il est nécessaire de prendre différentes précautions au moment du prélèvement de l'urine.

Le récipient destiné à recueillir l'urine doit être parfaitement propre - Il ne doit y avoir aucune trace de désinfectant, de détergent ou de tout autre produit pouvant perturber les résultats.

Il faut donc rincer le récipient plusieurs fois, à l'eau froide, avant de s'en servir.

Il est conseillé également de faire les tests sur des urines fraichement émises, n'ayant pas fermenté et qui ne sont pas trop froides.

L'échantillon d'urine doit être agité mais, en aucun cas, centrifugé.

- III - REACTIFS & TECHNIQUE D'UTILISATION.

a) Matériel utilisé.

Pour ce travail, nous avons utilisé les bandelettes MULTISTIX et les comprimés ICTOTEST commercialisés par le laboratoire AMES.

- Les bandelettes Multistix sont présentées en flacons de 100. Chaque flacon contient du dessiccateur indispensable à la bonne conservation des zones réactives et porte sur son étiquette les différentes échelles de couleur.

La bandelette est constituée d'un support plastique rigide sur lequel sont fixées sept plages réactives distinctes.

Ces plages réactives sont constituées, chacune, d'un carré de cellulose imprégné de réactifs.

Les bandelettes réactives mettent à profit le principe général des papiers indicateurs de pH en prés entant une réaction colorée par modification du pH. Les réactifs de la bandelette réagissent avec le constituant recherché de l'urine en modifiant le pH, d'où une gamme de coloration dépendant de la concentration du constituant recherché.

La bandelette Multistix permet, avec ses 7 blocs réactifs:

- la détermination du pH
- la recherche des protéines
- " du glucose
- " des corps cétoniques
- " de la bilirubine
- " du sang
- " de l'urobilinogène

- L' Ictotest est présenté en flacons de 100 tests: 100 comprimés accompagnés d'un nombre égal de carrés de cellulose.

Les comprimés d'Ictotest sont composés de différents réactifs permettant la mise en évidence de la bilirubine contenue dans l'urine.

b) - MODE D'EMPLOI:

MULTISTIX: Bien que les bandelettes réactives soient d'un usage facile, il est nécessaire de suivre rigoureusement le mode d'emploi qui garantit l'exactitude des résultats:

1°) - Plonger complètement toutes les zones réactives de la bandelette dans l'urine fraichement émise, homogène, non centrifugée, et l'en retirer immédiatement.

2°) - Tapoter la tranche de la bandelette sur le bord du récipient afin d'éliminer l'excès d'urine.

3°) - Comparer attentivement les zones réactives aux échelles colorimétriques correspondantes de l'étiquette du flacon suivant l'ordre chronologique précis indiqué.

ICTOTEST: Sur un des carrés absorbants fournis avec les comprimés d'Ictotest, on verse cinq gouttes d'urine. On place un des comprimés au centre de ce papier humecté, puis on laisse tomber deux gouttes d'eau sur le comprimé afin de provoquer l'effervescence nécessaire à la dissolution des réactifs.

La coloration du carré autour du comprimé est observée après 30 secondes.

Il faut noter que, pour chaque prélèvement, nous avons effectué des réactions classiques avant d'utiliser les bandelettes Multistix ou les comprimés d'Ictotest, afin d'avoir des "témoins".

c) - MULTISTIX.

(1) - Détermination du pH.

- Réactifs: La portion réactive est imprégnée de deux indicateurs colorés:
  - le rouge de méthyle
  - le bleu de bromothymol

- Principe de la réaction: C'est celui du virage des indicateurs colorés en fonction du pH.

Le rouge de méthyle et le bleu de bromothymol sont des acides faibles dont la forme acide et la forme basique sont de couleurs différentes (indicateurs bicolorés)

$$\underset{\text{Acide}}{H\,In} \rightleftharpoons \underset{\text{Base}}{In^-} + H^+$$

Acide	Base	
rouge	jaune	:rouge de méthyle
jaune	bleu	:bleu de bromothymol.

Le rouge de méthyle vire du rouge au jaune dans le domaine de pH 4,2 à 6,3 - la teinte sensible étant l'orange.

(la teinte sensible est obtenue quand la forme basique de l'indicateur est en quantité égale à la forme acide; elle équivaut à pH = log K = pK, K étant le coefficient de dissociation de l'indicateur).

Le bleu de bromothymol vire du jaune au bleu dans le domaine de pH 6 à 7,6 - la teinte sensible étant le vert.

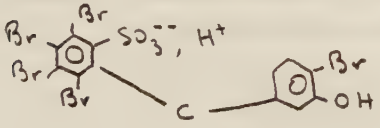
Par suite de l'association de ces deux indicateurs, lorsque le pH varie de 5 à 9, limites habituelles du pH ordinaire, le bloc réactif prend les teintes suivantes:

5 - Orange vif)
6 - Jaune)
7 - Vert clair) qui permettent d'évaluer les va-
8 - Vert foncé) leurs du pH à 1/2 unité près.
9 - Bleu)

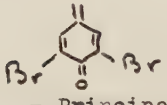
- Analyse témoin employée: Nous avons utilisé le papier pH Merck (Neutrakit pH 5 - 10)

(2) Recherche des protéines.

- Réactifs: La portion réactive est imprégnée d'un indicateur coloré: le bleu de tétrabromophénol et d'un tampon de pH convenable (tampon citraté de pH 3)



Formule du bleu de tétrabromophénol.



- Principe de la réaction: C'est l'application pratique de l'erreur des protéines de SORENSEN (1909) découverte par MIETZLER & BURGEKHART (1897).

Certains indicateurs colorés de pH donnent des résultats erronés quand le milieu renferme des protéines. Il en résulte qu'à un pH donné, maintenu fixe par un système tampon, la couleur de l'in-

dicateur pH sera modifiée par la présence de protéines, et cela d'autant plus que la quantité de protéines sera plus importante. En se reportant à une échelle de teintes, il sera ainsi possible d'avoir une idée de la teneur du milieu en protéines.

Le bleu de tétrabromophénol est un indicateur coloré qui vire normalement du jaune au bleu, dans le domaine de pH de 3 à 4,6. Quand le pH est tamponné à 3, la zone passe du jaune au vert (mélange de bleu et de jaune) uniquement en présence de protéines.

- Analyse témoin: Nous avons utilisé la réaction de HELLER (précipitation des protéines par l'acide nitrique).

Pour évaluer la quantité de protéines, lors de réaction positive, nous avons utilisé la méthode semi-quantitative de floculation avec l'acide trichloracétique.

(3) - Recherche du glucose.

- Réactifs: La portion réactive est imprégnée de glucose - oxydase, de peroxydase et d'un chromogène réduit (l'orthotolidine).

- Principe de la réaction:

En présence de glucose-oxydase, l'oxygène de l'air oxyde le glucose en acide gluconique avec formation simultanée de peroxyde d'hydrogène

$$\text{Glucose} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{Glucose oxydase}} \text{Acide gluconique} + H_2O_2$$

Le péroxyde d'hydrogène formé est décelé par une deuxième réaction enzymatique:

$$H_2O_2 + \text{chromogène réduit} \xrightarrow[\text{végétale}]{\text{Péroxydase}} \text{Dérivé oxydé}$$

(Orthotolidine) incolore — (Bleu de tolidine) bleu violacé

L'orthotolidine incolore dans sa forme réduite devient bleu-violet. La réaction est catalysée par une peroxydase d'origine végétale imprégnant le réactif.

En présence de glucose, la zone réactive passe donc du rose au bleu-violacé.

- Réaction témoin: On utilise les propriétés réductrices du glucose vis-à-vis des sels de cuivre en milieu alcalin (liqueur de FEHLING). On obtient un précipité rouge brique. POur les cas douteux, nous avons déféquer l'urine avec de l'acétate de plomb.

Les concentrations en glucose ont été mesurées à l'aide d'un technicon (Dosage colorimétrique au ferricyanure de sodium).

(4) - Recherche des corps cétoniques.

- Réactifs: La partie réactive est imprégnée de nitroprussiate de sodium, de glycine et d'une substance tampon.

- Principe de réaction: Elle est basée sur la propriété qu'ont l'acide acetylacétique (CH_3-CO-CH_2-COOH) et l'acétone (CH_3-CO-CH_3) de réagir avec le nitroprussiate de sodium en donnant une coloration mauve (réaction de LEGAL). Les composants de la réaction sont stabilisés à l'état deshydraté dans un milieu contenant de la glycine comme source d'azote et un tampon fortement alcalin.

Cette réaction ne permet pas de détecter l'acide β hydroxy- butyrique (CH_3-CHOH-CH_2-COOH) qui ne présente pas de fonction cétone bien qu'il soit classé en clinique dans le groupe des corps cétoniques.

- Réaction témoin: Nous avons utilisé le réactif de DENIGES.

(5) - Recherche de la bilirubine.

- Réactifs: La partie réactive renferme du diazo 2,4 dichloroaniline stabilisé dans un tampon fortement acide.

- Principe de la réaction:

La zone réactive a une couleur crème pâle qui prend une teinte jaune citron pâle au contact d'urines ne contenant pas de bilirubine.

En présence de bilirubine, celle-ci se conjugue avec la dichloroaniline diazotée (en milieu très acide) pour former de l'azobilirubine et la zone réactive prend une teinte allant du jaune pâle au brun pâle, proportionnellement à l'augmentation des quantités de bilirubine présente.

- Réaction témoin: Méthode de GRIMBERT.

Le principe est d'entrainer la bilirubine dans un précipité de phosphate de baryum, puis de transformer le pigment absorbé sur le précipité en biliverdine par oxydation en solution alcoolique sous l'influence d'acide chlorhydrique à chaud.

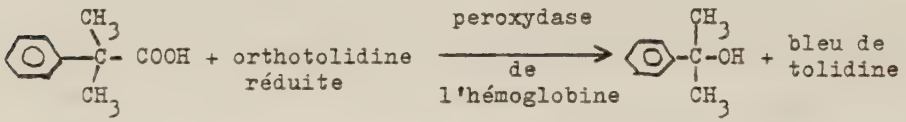
(6) - Recherche du "sang".

- Réactifs: La zone réactive est imprégnée d'un peroxyde et d'orthotolidine en tampon citraté.

- Principe de réaction: Cette mise en évidence du sang est basée sur les propriétés de l'hémoglobine.

L'hémoglobine est une peroxydase incomplète, mais lorsqu'elle est couplée à l'haptoglobine (α_2 glycoprotéine) elle devient un enzyme parfait de peroxydation (POLONOVSKI & JAYLE) (25).

L'hémoglobine ainsi que la myoglobine, les globules rouges et le pus, en présence d'un peroxyde (hydro-peroxyde de Cumène) provoque la libération d'oxygène actif qui est fixé par un chromogène réduit et incolore, l'orthotolidine; Celui-ci se trouve alors oxydé en dérivé de couleur bleue.



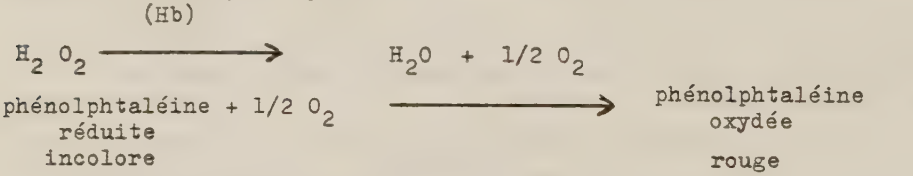
hydroperoxyde de Cumène

2 phényl propanol 2.

Un système tampon maintient le pH au niveau optimum pour le développement de cette coloration.

- Réaction témoin: L'activité peroxydasique des urines est recherchée par la réaction de KASTLE - MEYER.

La phénolphtaléine, réduite en milieu alcalin, incolore, se colore en rouge par oxydation.



(7) - Recherche de l'urobilinogène.

- Réactifs: La partie réactive renferme le paradiméthyl aminobenzaldehyde stabilisé dans un tampon acide.

- Principe de la réaction: Le système réactif au contact d'une urine contenant de l'urobilinogène en donnant des couleurs brun-rougeâtre d'intensité variable (réaction du paradiméthyl aminobenzaldehyde avec l'urobiligène en milieu fortement acide).

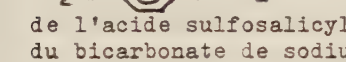
- Réaction témoin: L'urobiline ou son chromogène l'urobilinogène, est mise en évidence par la réaction de ROMAN et DELLUC.

Ces corps donnent une fluorescence verte très marquée en milieu alcoolique en présence d'acétate de zinc (Réactif d'EHRLICH)

d) - Ictotest.

- Réactifs - Chaque comprimé renferme:

du para nitro-diazobenzène paratoluène sulfonate



de l'acide sulfosalicylique (excipient effervescent)
du bicarbonate de sodium.

- Principe de réaction: La réaction est une variante de l'azoréaction d' EHRLICH. Lorsque l'urine est déposée sur un carré de papier spécial, la bilirubine est absorbée à sa surface. La petite quantité de bicarbonate de sodium avec l'acide sulfosalicylique forme un mélange effervescent qui assure la dissolution des ingrédients de la tablette dans deux gouttes d'eau.

La bilirubine et le composé diazoïque s'unissent pour donner une couleur pourpre.

L'acide sulfosalicylique présent fournissant un milieu acide favorable.

e! - Précautions d'emploi - Conservation.

- Précautions d'emploi: Il est important de les connaitre afin de ne pas obtenir de résultats erronés.

Ne pas toucher les zones réactives; tenir la bandelette du coté "Flèche".

Eviter d'exposer la bandelette à l'humidité, à la lumière directe, à la chaleur, aux substances volatiles acides ou basiques et aux différentes substances chimiques pouvant interférer que l'on trouve dans le laboratoire.

Plonger les parties réactives de la bandelette complètement et rapidement (1 seconde) pour éviter la dissolution des réactifs; Eliminer l'excès d'urine; Ne jamais laisser tremper; Ne pas tremper plusieurs fois.

Remarque: Si l'une des plages réactives de la bandelette est décolorée, celle-ci ne doit pas être utilisée.

- CONSERVATION.

A) ICTOTEST: En respectant les conditions suivantes, les flacons peuvent être conservés facilement 3 ans.

- Maintenir les flacons dans un endroit sec et frais (pas au réfrigérateur)
- Refermer soigneusement après emploi afin que le contenu ne puisse prendre l'humidité.
- Conserver les comprimés dans leur conditionnement d'origine, à l'abri de la lumière trop intense.
- Les comprimés peuvent prendre une coloration noirâtre avec le temps, leur sensibilité n'en est pas pour autant diminuée, à moins que cette couleur ne soit trop foncée.
- Les carrés de papier spécial doivent être protégés de la poussière et des vapeurs de laboratoire.

B) BANDELETTES: A ce propos, il est intéressant de rapporter une expérience de DREVON & JANIER (10) à propos de la conservation de la bandelette Clinistix:

Dans le premier cas, les réactifs sont maintenus dans leur emballage d'origine; la conservation est alors très bonne, la sensibilité reste la même:

- Après maintien à l'obscurité à 4º.
- Après maintien pendant 7 mois - à 37ºc - en atmosphère humide.
- Après maintien pendant 7 mois - à 50ºc - en atmosphère sèche.

Dans un second cas, les flacons ont été ouverts de temps en temps, puis refermés. La conservation reste, là encore, parfaite.

Dans un troisième cas, les flacons sont laissés ouverts indéfiniment. L' altération est, dans ce cas, très rapide.

Il faut conclure de cette expérience, qu'il importe surtout de garder les bandelettes dans leur conditionnement d'origine et de penser à refermer soigneusement le flacon après usage.

Dans ces conditions, sur lesquelles le fabricant insiste formellement, la conservation est excellente et très longue.

Cependant, comme le pensent SCHUSTER & PERLES (30), il serait souhaitable que chaque flacon porte l'indication d'une date limite d'utilisation, ce qui éviterait d'avoir des doutes, qui peuvent être injustifiés, sur la qualité du produit.

- IV - METHODE:

Nous avons, dans tous les cas, après prélèvement et filtration de l'urine, procèdé sur place à l'analyse de l'urine à l'aide des bandelettes, des comprimés Ictotest et du papier pH puis au laboratoire de Pathologie Médicale des Carnivores et des Equidés de l' ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE, nous avons procèdé aux analyses classiques que nous avons complétées par un examen microscopique du culot de centrifugation, pour préciser les éléments figurés normaux et anormaux.

Dans quelques cas, nous avons complété ces analyses qualitatives par une analyse quantitative des protéines et du glucose.

-:-:-:-:-:-:-

C H A P I T R E D E U X I E M E.

RESULTATS.

(1) - DETERMINATION DU pH.

Après comparaison des résultats obtenus avec Multistix et le papier indicateur de pH Merck, sur 48 urines, nous avons noté les variations pour des différences:

- nulles
- de ± 0,25 unité pH
- de ± 0,5 unité pH
- de ± 1 unité pH

Différence	Nombre d'urines
- 1	1
- 0,5	3
- 0,25	2
0	34
+ 0,25	3
+ 0,5	5
+ 1	0

Dans aucun cas, la différence n'a dépassé une unité pH.

(2) - RECHERCHE DES PROTEINES.

TABLEAU (A)

Nombre de cas	Multistix	HELLER Protéines vraies	Pseudo-albumines	Différents éléments mis en évidence.
8	-	-		- 1 avec beaucoup de G.R. - 1 avec des cristaux d'urate. - 1 avec de l'indican. - 2 avec G.R. + nitrate d'urée - 3 : rien.
4	+	+		- 1 avec G.R. + Spz. - 1 avec de l'indican. - 1 avec beaucoup de G.R. - 1 : rien
4	++	++		- 1 avec Spz + G.R. - 1 avec G.R. - 2 : rien.
2	+++	+++		- 1 avec de l'indican. - 1 : rien.
5	±	-		- 1 avec de l'indican. - 1 avec pigments biliaires. - 1 avec Spz - 2 : rien
7	+	-	± →	- 1 avec pigments biliaires + Spz. - 2 : rien - 3 avec pigments biliaires. - 1 : rien.
5	++	-	+ →	- 1 avec Indican + Spz. - 1 avec G.R. - 1 avec pigments biliaires. - 1 avec beaucoup de G.R. 1 : rien.

SUITE DU TABLEAU (A)

Nombre de cas	Multistix	HELLER Protéines vraies	Pseudo-albumines	Différents éléments mis en évidence.
5	+	±	+ →	- 1 : rien - 1 avec Spz + G.R. - 1 avec nitrate d'urée + pigments biliaires. - 2 : rien
1	++	±		- Pigments billaires.
1	+++	±	+ →	- Nitrate d'urée.
4	++	+		- 1 avec nitrate d'urée. - 1 avec Spz. - 1 avec pigments biliaires. - 1 : rien.
1	±	+		- Spz.
1	++	+++		- rien.

- TABLEAU (B)

HELLER \ MULTISTIX	-	±	+	++	+++	TOTAL
-	8	5	7	5	0	25
±	0	0	5	1	1	7
+	0	1	4	4	0	9
++	0	0	0	4	0	4
+++	0	0	0	1	2	3
TOTAL	8	6	16	15	3	48

- TABLEAU (C)

(Résultats quantitatifs)

(Précipitation à l'acide trichloracétique) -Concentration en g/l	Multistix	Heller	Pseudo-albumines
0	(+ (+ (-	(- (-	
0,2	(+++ (+	(± (±	+
0,5	(++ (++	(+ (+	
0,7	(+ (++ (++	(+ (++ (+	
1,4	++	++	
1,8	+++	+++	
2	++	+++	

(3) - RECHERCHE DU GLUCOSE.

- Résultats:

- TABLEAU (A)

Nombre de cas	Multistix	Réaction témoin	Concentration (g/l) Technicon
40	-	-	
1	-	±	0
1	± après 20 s.	-	
2	±	-	
1	+	-	
1	++	±	1,1
2	+++	++	2 et 3

- TABLEAU (B) Test de sensibilité des bandelettes à l'aide de solutions titrées.

Concentration en Glucose (g/l)	Résultats avec Multistix
0,005	-
0,5	-
0,1	-
0,25	traces
0,3	+
0,5	+
0,75	+/++
1	++
1,5	++/+++
2	+++
5	+++

(4) CORPS CETONIQUES.

- Résultats:

Réaction témoin	Multistix
48 (-)	48 (-)

(5) SANG.

Nombre de cas	Multistix	Témoin	Examen microscopique du sédiment de centrifugation.
32	—	—	- 1 avec quelques G.R.
3	±	—	- 1 " " "
4	+	—	- 3 avec de rares G.R.
2	+	±	
1	+	+	- 1 avec de rares G.R.
1	++	±	- G.R.
3	++	+	(2 avec G.R. (1 avec de nombreux G.R. (urine rouge
2	+++	++	- 2 avec de nombreux G.R. urine rouge

(6) BILIRUBINE.

Nombre de cas	Multistix	Ictotest	Réaction témoin	Mise en évidence de pigments biliaires par le test de Heller
38	—	—	—	- 3 avec pigments biliaires
1*	(+++)-	—	—	—
1	±	± (frange bleutée)	±	
1	±	—	±	- Pigments
2	+	—	—	- 2 avec pigments biliaires
1	++	violet	+	- Pigments
1	++	bleu	+	—
1	+++	bleu violet	+	- Pigments
2	+++	bleu	+	- 2 avec pigments biliaires

* Urine contenant du sang analysé avant et après centrifugation.

(7) UROBILINOGENE.

Nombre de cas	Multistix	Unité Ehrlich	Réaction témoin
40	-		-
1	±	1	-
1	+	4	±
1	+	4	+
1	+	4	++
2	++	8	+
1	++	8	++
1*	(+++)-		-

* Voir remarque précédente.

				PH		Protéines		Glucose		Corps cétoniques		Sang		Bilirubine			Urobilinogène		Affections et maladies
Chat	Sexe	Age	Race	B	RT	B	RT	B	RT	B	RT	B	RT	B	RT	Ict	B	RT	
1	♀		E	6	6	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Otacariase
2	♂		E	6,5	6,5	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Fracture de la mâchoire
3	♀	5 ans	E	6,5	6,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4	♀	3 ans	E	6,5	6,5	++	+	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	
5	♂	12 ans	E	6	6,5	++	+++	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-	Néphrite
6	♂	19 ans	E	6	7	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Eczéma
7	♀	3 ans	E	6	6	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
8	♀	4 ans	E	6	6	++	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	Néphrite
9	♂	7 ans	E	6	6	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Gingivite
10	♀			6,5	6,5	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11	♂	7 ans	E	7	7	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Gingivite
12	♂	7 ans	E	6,5	6,5	+	+/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Gingivite
13	♂	7 ans	E	6	6	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Gingivite

				PH		Protéines		Glucose		Corps cétoniques		Sàng		Bilirubine			Urobilinogène		Affections et maladies
Chat	Sexe	Age	Race	B	RT	B	RT	B	RT	B	RT	B	RT	B	RT	¼	B	RT	
14	♂	7 ans	E	6,5	6,5	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Gingivite
15	♀	7mois	E	6,5	6	-	-	±	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-	Etat infectieux
16	♂	1 an	E	6,5	6,5	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Choc post-opératoire Réduction chirurgicale fracture.
17	♀	7mois	E	7	7	-	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	Etat infectieux
18	♂	2 ans	S	7	7	+++	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Coryza
19	♂	6 ans	E	6	6,25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Etat infectieux
20	♂	4 ans	E	6	6,5	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	Etat infectieux
21	♀	7mois	E	6,5	6	-	-	-	-	-	-	++	±	-	-	-	-	-	Etat infectieux
22	♂	7 ans	E	6	6	++	++	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	Gingivite
23	♀	8mois	E	6,5	6,5	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	Etat infectieux
24	♂	7 ans	E	6	6	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	Gingivite
25	♂	3 ans	E	6,5	6	+	-	-	-	-	-	-	-	+++	+	bleu violet	++	++	Hémobartonellose
26	♂	5 ans	E	6	6	++	-	+++	++	-	-	-	-	+++	+	bleu	++	++	Hémobartonellose

Chat	Sexe	Age	Race	PH		Protéines		Glucose		Corps cétoniques		Sang		Bilirubine			Urobilinogène		Affections et maladies
				B	RT	B	RT	B	RT	B	RT	B	RT	B	RT	Ict	B	RT	
27	♀			6,5	6,5	+	-	-	-	-	-	-	-	+++	+	bleu	++	+	Hémobartonellose
28	♂	7 ans	E	6	6	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Gingivite
29	♀	5 ans	E	6,5	6,5	+	±	-	-	-	-	+	+/	+	-	-	-	-	
30	♂	25 ans	E	6,5	6,5	++	++	-	-	-	-	-	-	±	±	±	+	±	Gastro-entérite
31	♀	1 an	E	6	6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Leucopémie
32	♂	4 ans	E	6,5	6,5	++	-	+++	++	-	-	++	+	-	-	-	-	-	
33	♀	3 ans	E	6,5	6,5	+	-	-	-	-	-	-	-	++	+	violet	+	+	Hémobartonellose
34	♂	2,5ans	E	6,5	6,25	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Etat infectieux
35	♀	9mois	S	6,5	6,25	++	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
36	♂			6,5	7	+++	+++	+	-	-	-	+++	++	+	++*	-	-	+++*	-	Obstruction urètrale
37	♀	15 ans	E	6,5	6,5	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Gastrite
38	♂	9mois	E	6,5	6,5	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Anémie régénérative-Ankylostomoses
39	♂	2 ans	E	6	6	+	±	-	-	-	-	-	-	±	±	±	-	-	

* Urine contenant du sang - Analyses avant et après centrifugation

				PH		Protéines		Glucose		Corps cétoniques		Sang		Bilirubine			Urobilinogène		Affections et maladies
Chat	Sexe	Age	Race	B	RT	B	RT	B	RT	B	RT	B	RT	B	RT	Ict	B	RT	
40	♂	5 ans	E	6	6	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Abcès de la face
~~41~~	♂	9mois	E	5,5	5,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
42	♀	5 ans	E	6	6	+	+	-	-	-	-	+++	++	-	-	-	-	-	Ankylostomose
43	♂			6,5	6	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cystite
44	♂	2 ans	S	6	6	++	-	++	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Hémobartonellose
45	♂	1 an	E	6	6	±	-	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	Paralysie train postérieur posttraumatique
46	♂	2 ans	S	6	6	++	-	+/-		-	-	±	-	-	-	-	-	-	Calicivirose
47	♀	3 ans	E	6	6	++	+/	-	-	-	-	-	-	++	+	+	±	-	Paralysie train postérieur posttraumatique
48	♂	3 ans	E	6,5	6	+/	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	Leucose

C H A P I T R E T R O I S I E M E.

-:-

ANALYSE DES RESULTATS.

(1) - Le pH.

a) Fiabilité. Après analyse des résultats obtenus pour le pH, nous constatons qu'il y a:

70,9 % de concordance totale
81 % de concordance à ± 0,25
98 % de concordance à ± 0,5

Pour une urine seulement, la différence était égale à 1 unité pH et il est à noter que ce cas se situait au début de l'expérimentation où nous n'étions pas encore habitués à apprécier les colorations intermédiaires.

- Ces observations rejoignent les résultats obtenus pour les urines d'autres espèces: BUJON (2) chez le chien note une concordance totale.

LEVASSEUR et HAHN (18) obtiennent chez la vache, une erreur d'au moins une unité pH dans respectivement 4 % (131 cas) et 2,2 % (357 cas) des analyses.

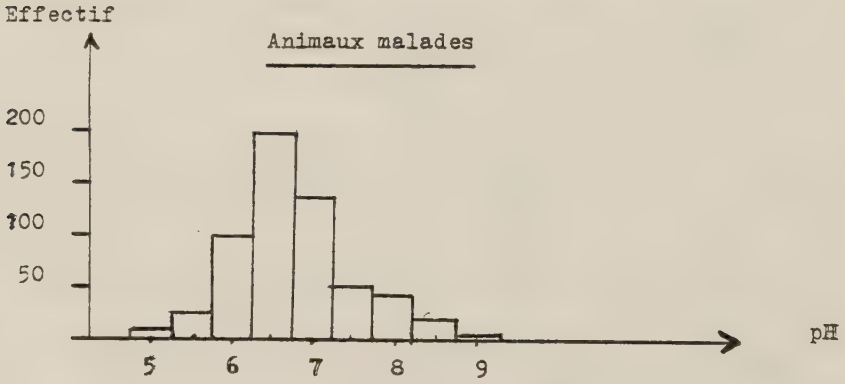
- En comparant avec des résultats obtenus avec des pHmètres VELASQUEZ ET COLL (33) ont obtenu des variations de plus de 0,5 unité pH dans 9,7 % des cas, et HAHN (15) des variations de 0,5 unité pH dans 13% des cas et de 1 unité pH dans 1,75 % des cas.

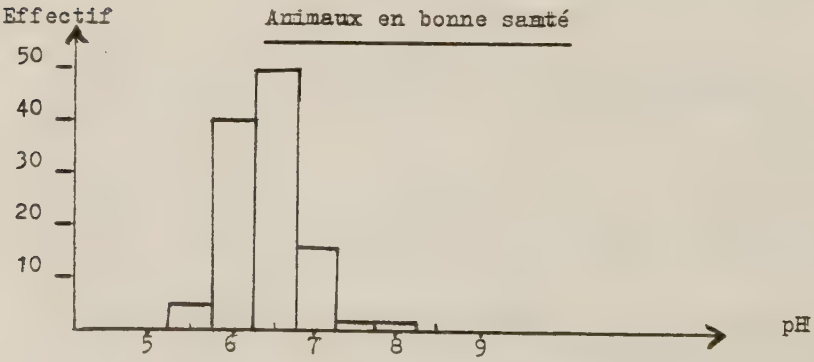
Il faut, toutefois, noter que chez les ruminants les valeurs des pH atteignent souvent les limites des bandelettes réactives dans la zone alcaline, entrainant un certain nombre d'erreurs.

- Chez le chat - OSBORNE (22) qui a étudié la valeur du pH des urines d'animaux en bonne santé et malades, donne les valeurs suivantes:

....

	Nombre	Mini	Maxi	Moyenne
Cas cliniques sur 2 ans 1/2	517	5	9,0	6,7
Chats ♂ adultes en bonne santé	104	5,5	8,0	6,4





Nous mêmes, lors de notre étude, avons noté les valeurs suivantes:

Valeur du pH		5,5	6	6,25	6,5	7
Nombre de cas	Multistix	1	21	-	23	3
	Papier pH Merck	1	22	4	16	5

La gamme des valeurs du pH des bandelettes réactives est donc tout à fait suffisante, même pour les cas extrèmes.

- Causes d'erreurs:

La zone pH n'est pas affectée par le pouvoir tampon de l'urine.

Une prolifération bactérienne peut provoquer son alcanisation par fermentation et rendre l'échantillon inutilisable pour l'analyse.

Le pH peut également être modifié par certaines médications et lorsque le récipient est contaminé (notamment par les ammoniums quaternaires).

D'où l'intérêt d'analyser les urines fraichement émises et recueillies dans un récipient rincé à l'eau fraiche.

Il est à noter que l'excès d'alcalinité des urines (pH $>$ 8) peut entrainer une réaction faussement positive de la zone "protéines" de la bandelette. Il est donc intéressant d'avoir, avec la même bandelette, la possibilité d'analyser le pH et les protéines.

CONCLUSION: Ce test semble assez sensible et suffisamment sûr (erreur d'une unité pH dans moins de 2 % des cas) pour l'évaluation du pH des urines du chat.

-:-:-:-:-:-:-:-:-

(B) - LES PROTEINES.

- Fiabilité.

Dans notre étude, nous n'avons noté une concordance totale des résultats que dans environ 50 % des cas. Toutefois, ce chiffre ne correspond pas vraiment à la réalité, les deux méthodes n'ayant que peu de valeur dans l'appréciation quantitative des protéines.

Nous n'avons noté aucun résultat totalement erroné par défaut, seulement deux cas moins nets avec les bandelettes qu'avec la réaction de Heller.

Si l'on ne tient pas compte des traces dans aucune des réactions ni des différences de valeur non significatives (appréciation quantitative):

19 urines (39 % des cas) se sont révélées faussement positives, dont 7 contenaient des pseudo albumines et 2 des globules rouges ou des spermatozoïdes, soit plus de 20 % de résultats faussement positifs, sans explication.

Bien que présentant des concordances plus nombreuses, les différents auteurs s'accordent pour noter la fréquence des erreurs par excès.

- Chez les bovins, LEVASSEUR (18) note une concordance très supérieure malgré les difficultés causées par l'alcalinité de l'urine.

- BUJON (2) sur 37 chiens, ne signale que 3 erreurs par excès dont 2 avec pseudo albumines, mais sur 10 chats, il note 4 erreurs dont 2 avec des pseudo albumines (40 % d'erreurs dont la moitié est inexpliquée).

- HAHN (15) donne des résultats assez voisins des notres, pour 404 urines de vaches, il a obtenu:

- 73 % de concordance
- 1,5 % d'erreurs par défaut
- 25,5 % d'erreurs par excès.

- Chez l'homme, d'après RENNIE (26), la correspondance des résultats avec ceux obtenus par des méthodes classiques a lieu dans plus de 70 % des cas

- Sensibilité.

Cette zone détecte toutes les protéines, mais avec un seuil de sensibilité variable.

D'après le fabricant, la bandelette est plus sensible à l'albumine qu'aux globulines, hémoglobine et mucoprotéines.

Elle présente un seuil de sensibilité situé entre 0,05 et 0,2 g/l; les réactions étant notées:

Négatif, traces,	+ ,	++ ;	+++ ,	++++
	0,30 0,30	1	3	10 g & plus

La plupart des auteurs confirme la valeur du seuil de sensibilité malgré le manque de netteté du changement de coloration. - RENNIE (26) constate que 9 % des urines contenant moins de 0,05 g/l donnent un résultat +

Tous s'accordent pour donner une sensibilité suffisante aux bandelettes. Une réaction trace pouvant mettre souvent en évidence des concentrations de 50 à 200 mg/l, sans signification pathologique; il y a même intérêt à ne pas considèrer les réactions traces dans les recherches systématiques.

Les avis sont également unanimes pour affirmer que les indications quantitatives sont approximatives et variables.

D'après les échantillons d'urine que nous avons dosés, la réaction de Heller semble donner des résultats plus proportionnels aux quantités de protéines que la bandelette.

- CAUSES D'ERREUR:

- Réactions faussement négatives.

La réaction semble suffisamment spécifique pour éviter ces erreurs, la plupart des auteurs n'en rencontrent pas ou très peu.

Il est recommandé de ne pas utiliser d'acides minéraux forts pour conserver l'urine, la réaction sur le bleu de tetrabromophénol étant alors empêchée.

La réaction peut également être cachée lorsque l'urine contient des substances ayant une affinité avec la cellulose de la bandelette - C'est le cas du bleu de méthyle et de la bétamidine.

- Réactions faussement positives.

Bien que la zone protéine de la bandelette soit suffisamment tamponnée pour la plupart des urines, les échantillons alcalins ou fortement tamponnés peuvent donner de faux résultats positifs en l'absence de protéinurie significative.

Le bleu de tétrabromophénol change alors de couleur en fonction du pH.

Chez les ruminants, dont l'urine est souvent fortement alcaline, ce phénomène semble être la principale source d'erreurs (LEVASSEUR) (18).

Chez le chat, l'urine est, dans la majorité des cas, acide. Dans les cas exceptionnels où l'urine a un pH supérieur à 8, il est nécessaire de la neutraliser avec de l'acide acétique étendu avant de rechercher les protéines.

Au cours de notre étude il ne semble pas y avoir eu de corrélation entre le pH et les fausses positivités pour la protéinurie.

pH témoin	Concordance entre B et RT	Pas de concordance entre B et RT	TOTAL
pH < 6,5	3	2	5
pH = 6,5	11	5	16
pH > 6,5	15	12	27

- Relation entre " protéines et pH" -

Pas de concordance entre B et RT signifie réaction (-) avec Heller et positive (+ à +++) avec bandelettes, donc réaction faussement positive, excepté pour le cas nº 18 où le résultat Heller (+) et bandelettes +++ a été noté absence de concordance entre B et RT car c'est un cas de différence nette.

Le même phénomène peut également se rencontrer lors de contamination du récipient par une base ou dans le cas d'urine vieillie après fermentation ammoniacale due au développement de levures et de bactéries. La présence sur la même bandelette d'une zone pH permet d'éviter cette erreur.

Il faut noter également que les glycosuries s'accompagnent souvent d'une fausse protéinurie.

Glycosurie avec bandelettes	Concordance entre B et RT	Pas de concordance entre B et RT	TOTAL
Pas de glycosurie	25	15	40
Glycosurie	4	4	8
TOTAL:	29	19	48

Ce phénomène n'a pas pu être reproduit expérimentalement.

Une autre cause d'erreur est représentée par la présence dans les urines, de mucoprotéines ou "pseudo-albumines" chaque fois que s'y ajoute un peu de sperme ou de secrétions vaginales.

Ces mucoprotéines, facilement différenciées de l'albumine par la réaction de Heller, donnent, lorsqu'elles se trouvent en grande quantité, des réactions positives avec les bandelettes:

Nombre de cas	Pseudo-albumine	Multistix	Heller	
1	±	+	−	spz
2	+	+	−	
2	+	++	−	1 avec spz
1	+	+	±	
1	+	+++	±	

Le prélèvement de l'urine par cathétérisme limiterait la contamination de l'urine; cette technique est malheureusement d'une réalisation délicate chez le chat.

SCHMITT (19) pense qu'un grand nombre de réactions faussement faiblement positives, seraient dues à des urines fortement teintées:

la zone de virage entre les premiers blocs colorimétriques est en effet, peu nette.

Nous pensons, pour notre part, qu'un certain nombre d'erreurs, faussement positives, en l'absence de mucoprotéines que nous avons rencontrées, étaient dues à ce phénomène.

La coloration jaune citrin avec une légère fluorescence verte de l'urine du chat affectant plus le bloc colorimétrique que les urines jaune d'or ou même jaune orangé.

Seuls, certains polymères, notamment le poly-vinylpyrrolidone, semblent pouvoir donner des réactions faussement positives.

La zone protéine des bandelettes n'est pas affectée par:

- la turbidité de l'urine
- les produits de contraste aux rayons X
- la plupart des médicaments et leurs métabolites
- les agents de conservation de l'urine ne modifiant pas le pH.

- CONCLUSION:

Bien que la zone protéine des bandelettes soit très sensible à la présence d'albumine, la multiplication des résultats faussement positifs

- soit présence de mucoprotéines,
- soit influence de la coloration de l'urine -

rend les bandelettes réactives inutilisables pour la recherche des protéines dans l'urine du chat.

Il est préférable d'utiliser la classique réaction de Heller qui, de plus, permet d'apprécier la concentration en protéines de façon plus précise.

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

(C) LE GLUCOSE.

- Sensibilité.

Le fabricant indique un seuil de sensibilité de 1 g/l.

Nous avons voulu vérifier ce seuil et avons constaté un virage de la zone glucose aux environs de 0,25 g/l.

POLONOVSKY et COLIN (7) le constate vers 0,1 à 0,2 g/l SAUTOT - VIAL (29) et LEVASSEUR (18) vers 0,5 g/l.

Comme, pour toute réaction enzymatique, la sensibilité est affectée par les conditions de température et de pH:

- la température optimale est comprise entre 15 et 37° le pH optimal est acide (environ 5).

La coloration est sensiblement proportionnelle à la concentration de glucose, elle est maximum vers 5 g/l.

Ces valeurs varient en fonction de la température et du pH.

En milieu alcalin et pour des températures basses, la réaction est lente et incomplète.

Chez le chat, dont l'urine est le plus souvent acide, la bandelette peut être utilisée dans la majorité des cas, pour une évaluation approximative de la dose de glucose dans l'urine si c'est une urine fraichement émise.

Chaque + correspond à peu près à 0,5 g/l de glucose.

- Fiabilité.

Le seuil de sensibilité des réactions mettant en œuvre la réduction des sels cuivriques est beaucoup plus élevé que celui des bandelettes (1,5 g/l pour la liqueur de Felhing).

C'est ce que nous avons pu constater au cours de l'expérimentation.

Les résultats faiblement positifs donnés par les bandelettes ne sont pas confirmés par la réaction témoin.

Une seule réaction s'est révélée positive faiblement avec la réaction à la liqueur de Felhing, alors qu'elle était négative avec Multistix. Mais le dosage à l'aide d'un technicon n'a pas mis en évidence de glucose.

....

La réaction enzymatique est beaucoup plus spécifique que la réaction à la liqueur de Felhing.

Remarque: Nous avons noté un nombre élevé d'urines contenant des quantités plus ou moins importantes de glucose de façon transitoire. Ceci s'explique par la fréquence des blocages urètraux stimulant la secrétion de glucocorticoïdes qui induit une hyperglycémie et une glycosurie (LOEB & KNIPLING) (19).

On note également des glycosuries dans les cas de traitement avec les corticoïdes ou avec du soluté glucosé.

- CAUSES D'ERREURS:

- Réactions faussement positives.

La réaction enzymatique est la plus spécifique que l'on puisse utiliser pour la détection d'un métabolite.

Seuls, certains sucres peuvent donner des réactions faussement positives mais à des concentrations jamais rencontrées dans l'urine:

- Le Mannose 10 g/l
- Le Galactose 25 g/l
- Le Maltose 50 g/l

Les oxydants peuvent également donner des réactions positives en agissant directement sur le chromogène, notamment l'eau de javel, la chloramine T, le persulfate de potassium, le perborate de sodium, le chromate et le bichromate, utilisés pour le nettoyage des récipients.

Il est facile de reconnaitre ces réactions qui sont beaucoup plus rapides et intenses qu'avec le glucose; le bloc calorimétrique pouvant même prendre des colorations violacées à brunatres. Il faut donc veiller à utiliser de la verrerie suffisamment rincée à l'eau.

- Réactions faussement négatives.

La plupart des composés ayant un pouvoir réducteur suffisant peuvent gêner la fixation de l'oxygène actif sur l'orthotolidine en empêchant ainsi ou en retardant la réaction.

Seul, l'acide ascorbique, peut se rencontrer habituellement à des doses suffisantes pour perturber la réaction.

D'après PIETTE (29) une dose de 10 mg/kG aurait une incidence.

Il faut également citer pour mémoire:

- Les substances anti-oxygène
- la rongalite
- l'hydrosulfite et bisulfite de sodium
- le formaldehyde) qui perturbent la réaction
- thiourée)
- les métabolites de l'aspirine

ainsi que ceux du chloral, du camphre, du pyramidon, des sulfamides, de la morphine, des dérivés phénoliques, de la pénicilline, de la streptomycine.

- Les substances alcalinisantes comme le bicarbonate de sodium diminuent la sensibilité des bandelettes en augmentant le pH.

Certains sels minéraux, à des concentrations suffisantes, agissent sur le chromogène et le décolore, et sur les enzymes en les inhibant:

- les cyanures, le fluorure de sodium, le chlorure de magnésium.

CONCLUSION:

Sauf dans le cas de contamination accidentelle des urines, la zone glucose peut être considérée comme la plus spécifique des analyses courantes pour la recherche du glucose et, en tout cas, suffisamment sûre et précise.

Il conviendra de ne pas trop tenir compte des réactions faiblement positives, surtout si elles sont transitoires à cause de l'extrême sensibilité de la réaction.

-:-:-:-:-:-

(D) - LES CORPS CETONIQUES.

Nous avons pu constater une parfaite concordance des résultats et l'absence de réactions faussement positives.

La réaction est la même que celle de LEGAL utilisée fréquemment au laboratoire. Elle permet de mettre en évidence l'acide acétyl-acétique et l'acétone avec une sensibilité presque équivalente.

(Acétone) g/l	0	0,25	0,4	0,5	1	2	4	8
N. Labstix	-	-	±	+	+	++	++	+++
Ketostix	-	-	±	+	+	++	++	+++
Réactif de Legal	-	-	Rose	Rose	Carmin clair	Carmin clair	Carmin	Carmin foncé

TABLEAU
Sensibilité comparée du N Labstix, du Ketostix et du réactif de Legal à l'acétone (d'après LEVASSEUR (18).

SAUTOT-VIAL (29) constate que la bandelette est moins sensible que la réaction de ROTHERA et que les comprimés ACETEST pour l'acétone (seuil de sensibilité = 0,05 g/l).

Par contre, pour l'acide Acetyl acétique, FRASER (11) donne une sensibilité des bandelettes de l'ordre de 0,05 à 0,1 g/l d'urine.

Dans une étude faite dans un hopital, sur plus de 500 urines humaines, il note moins de 0,5 % d'erreur faussement négative par rapport au comprimé et de 5 % par rapport à la réaction de Rothera.

CAUSES D'ERREUR:

- Le test doit être effectué peu de temps après le prélèvement, sous peine d'obtenir une fausse négativité due à l'évaporation des corps cétoniques.

Un certain nombre de substances donne des réactions colorées plus ou moins différentes de la gamme colorimétrique qui peuvent gêner l'interprétation.

- Les phényl acétones donnent une coloration rouge brique puis vert jaunatre.

- Les dérivés de la phtaléine donnent une coloration rouge. La présence de phtaléine est décelée en alcalinisant l'urine.

- V. hydroxyquinoléine.

- Les sulfures donnent une coloration violette ou noire très brutale.

CONCLUSION:

La zone Corps cétoniques est dérivée des méthodes classiques. Elle a la même fiabilité et a su garder une sensibilité à peine inférieure, en augmentant la facilité d'emploi.

-:-:-:-:-:-:-

(E) BILIRUBINE.

Dans notre étude, nous avons trouvé une assez bonne concordance entre les résultats fournis par les trois réactions; Seules deux réactions positives avec le Multistix n'ont été vérifiées par aucune des deux autres méthodes.

La réaction de Heller montrait la présence de pigments biliaires dans les deux cas, et une de ces urines contenait de l'urobilinogène.

Il est à noter que les colorations obtenues, avec l'urine de chat, sont sensiblement différentes de celles de la gamme étalon, les plages des bandelettes apparaissant beaucoup plus orangées.

Ces résultats sont sans doute à rapprocher des remarques faites par différents auteurs à propos des colorations gênantes dues à la présence de substances telles que:

Urobiline, indican, salicylate, protéines.

Les comprimés Ictotest ont été plus constants dans leur coloration.

Une réaction s'est révélée faussement négative avec l'Ictotest alors qu'elle était légèrement positive avec les bandelettes et la réaction de Grimbert. Mais il est difficile d'en conclure que l'Ictotest est moins sensible que les autres méthodes, d'autant plus que les différents auteurs lui donnent une sensibilité supérieure:

Seuil de sensibilité de l'Ictotest: 0,5 à 1 mg/l
Seuil de sensibilité des bandelettes: 2 mg/l

- La réaction ++ correspond à environ 5 mg/l
- La réaction +++ correspond à environ 10 mg/l

CAUSES d'ERREUR:

A part les colorations atypiques dûes aux différents catabolites déjà cités, une réaction colorée ressemblant à celle de la gamme peut être provoquée par une quantité importante de chlorpromazine dans l'urine.

Les métabolites de médicaments tels le pyridinium ou le serenium peuvent donner une coloration rougeâtre.

Il faut noter également l'extrême sensibilité des comprimés Ictotest à l'humidité, celle-ci rendant la réaction moins sensible.

CONCLUSION:

Bien qu'assez peu fiable et peu sensible, la zone bilirubine peut donner une indication intéressante sur la présence de bilirubine dans l'urine, surtout si ce test est associé à la réaction de Heller.

La sensibilité des comprimés Ictotest est légèrement supérieure à celle des bandelettes. Cependant, celle-ci n'est pas suffisante pour envisager l'emploi d'un réactif supplémentaire.

-:-:-:-:-:-

(F) - Zone "SANG".

Les résultats obtenus durant notre expérimentation montre à l'évidence, la concordance des résultats.

La réaction positive des bandelettes a toujours été confirmée par la réaction de KASTLE - MAYER ou par la mise en évidence de Globules rouges dans le culot de centrifugation.

La deuxième constatation que l'on peut faire est la grande sensibilité des bandelettes par rapport à la réaction de KASTLE - MAYER.

- COURTOIS ET DEBRIS (8) considèrent que la technique de PERLES (teinture de Gaïac et pyramidon) est sensible à 440.000 globules rouges/ml alors que la bandelette l'est à 220.000 -

- HAHN (15) note la supériorité des bandelettes sur la technique d' ADLER (à la benzidine).

(Voir tableau page suivante)

TABLEAU: Comparaison de la technique d'Adler et de la bandelette, sur 404 urines de bovins.

		HEMASTIX				
		-	+	++	+++	TOTAL
(Méthode d'Adler)	-	338	17	14	-	369
	+	4	1	4	1	10
Test à la benzidine	++	-	2	5	3	10
	+++	-	-	1	14	15
	TOTAL	342	20	24	18	404

La détection microscopique des globules rouges est aussi sensible et d'une spécificité absolue, mais ne rend pas compte de la présence d'hémoglobine. De plus, cet examen est considérablement gêné chez le chat par la présence fréquente de globules gras, en nombre important.

Ces globules gras ont un diamètre variant de 5 µ à 15 µ Ils ne se distinguent des globules rouges que par une réfringence légèrement supérieure.

CAUSES D'ERREUR:

- Réactions faussement positives.

La bandelette réagit avec la myoglobine. Les péroxydases des leucocytes, en quantité suffisante, peuvent provoquer des réactions positives en cas d'infection purulente du tractus urogénital ainsi que des organes sexuels externes (prépuce).

L'examen macro et microscopique des urines lève toute ambiguité.

Les oxydants, en agissant directement sur le chromogène, peuvent donner une faisse réaction positive:

- les iodures à ùne concentration supérieure à 0,2 g/l
- les hyposulfites, lors de contamination des récipients.
- les autres antiseptiques n'ont une action qu'à des concentrations dépassant largement la simple contamination (COURTOIS) (8).

- Réactions faussement négatives:

Seuls l'acide ascorbique (0,1 g/l) et l'acide gentisique (0,2 g/l) peuvent masquer la réaction. Les autres médicaments réducteurs sont sans influence sur la réaction.

- SENSIBILITE:

Comme nous l'avons vu précédemment, la zone sang des bandelettes est la plus sensible des réactions permettant la détection du sang ou de l'hémoglobine.

D'après le fabricant, le test est toujours positif pour un taux supérieur à 50.000 GR/ml.

La sensibilité minimum de la zone sang varie de 4.000 à 8.000 GR/ml.

COURTOIS (8) et LEVASSEUR (18) donnent un seuil de sensibilité de l'ordre de 200.000 à 300.000 hématies/ml dans les conditions les plus défavorables.

La zone Sang est plus sensible à l'hémoglobine qu'aux hématies

Temps de lecture	30.000	40.000	50.000	I00.000	I50.000
30 sd (conseillé)	-	-	±	+	++ à +++
45 sd	-	-	+	++	+++
60 sd	-	+	+	++	+++

TABLEAU: Sensibilité du N Labstix à l'hémoglobine.

Ceci explique les variations du seuil de sensibilité aux hématies, un certain nombre d'hématies étant hémolysées.

Les facteurs favorisant l'hémolyse sont la pression osmotique, le pH et le temps passé, par les hématies, dans l'urine.

Densité de l'urine	Seuil de sensibilité (hématies/ml)
1029	Environ 200.000
1020	" 90.000
1010	" 40.000
1000 (eau distillée)	" 5.000

TABLEAU: Sensibilité du N Labstix aux hématies, en fonction de la densité de l'urine.

- A pH 4,5 tous les globules rouges sont hémolysés en moins de trois heures.

Ces différents facteurs expliquent la différence entre les résultats théoriques obtenus en ajoutant des globules rouges à l'urine et les résultats observés dans la pratique.

L'urine du chat est acide et sa pression osmotique assez faible (1010 à 1020). Nous constatons donc une sensibilité élevée.

Le débit par minute normal des hématies dans l'urine, c'est à dire l'hématurie physiologique, est inférieure à 1000 hématies/minute, soit environ 1500 hématies/ml chez l'homme d'après HAMBURGER (16).

Les réactions positives devraient donc toujours être considérées comme anormales.

CONCLUSION:

La zone "sang" des bandelettes est la plus sensible et le plus fidèle des recherches chimiques.

Une réaction positive devra être confrontée à un examen cytologique pour rechercher la présence de globules rouges ou de leucocytes. En l'absence de ces éléments, on pourra parler d'hémoglobinurie.

-:-:-:-:-:-

(G) UROBILINOGENE.

Nous avons constaté une bonne concordance des résultats obtenus avec les bandelettes et avec la réaction de Roman et Deluc.

La réaction donnant une valeur de 1 unité Ehrlich doit être considérée comme marginale.

De même, HAGER et FREE (14) ont montré qu'Urobilistix et la méthode semi-quantitative de Watson (appréciation de la densité optique au spectrophotomètre après addition du réactif d'Ehrlich et comparaison à une courbe standard) donnent des résultats équivalents.

Urobilistix (Unités Ehr / 100 ml)	Méthode de Watson (Unités Ehr / 100 ml)
1	1,4 ± 0,1
4	4,3 ± 0,8
8	8,7 ± 1,0
12	14,6 ± 1,9

TABLEAU: Comparaison d'Urobilistix et de la méthode de Watson.

CAUSES D'ERREUR:

Ce test n'est pas spécifique de l'urobilinogène, il réagit avec les mêmes substances que celles qui entrent en action avec le réactif d'Ehrlich.

Ces substances comprennent:

- l'urobilinogène
- le porphobilinogène
- l'acide para-aminosalycilique

L'indole et le scatole donnent des réactions colorées identiques à la gamme. Le sulfisoxazole (Cantrisine) donne des réactions jaune d'or atypiques.

La présence de bilirubine ou de grosses quantités de sang dans l'urine, peut modifier la réactivité de la bandelette.

Un pH franchement alcalin augmente la sensibilité des bandelettes.

SENSIBILITE:

L'Urobilistix permet de différencier la valeur normale des valeurs élevées dans 92 % des cas, et de déceler des concentrations égales à 0,1 unité d'Ehrlich par ml.

CONCLUSION:

La zone urobilinogène donne des résultats satisfaisants dans l'appréciation de l'urobilinogène.

Il faut noter que CATCOTT (3) considère que les valeurs, pour un prélèvement ponctuel unique, n'ont pas de signification chez le chat.

-:-:-:-:-:-:-:-

C O N C L U S I O N.

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

Il ne faudra jamais assez insister sur le mode d'emploi des bandelettes et des comprimés réactifs.

La contamination de l'urine, par des secrétions ou des antiseptiques, donne souvent des réactions erronées.

L'exposition prolongée à l'humidité de l'air, semble être la cause principale de la répétition de résultats anormaux.

Dans ce cas, il est indispensable de comparer les réactifs du lot suspect avec des réactifs neufs.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus sont satisfaisants à l'exception de la zone protéine. Il est donc indispensable, lors d'un examen rapide des urines du chat, de compléter l'analyse à l'aide des bandelettes réactives par une réaction de Heller.

Il est utile également, de réaliser un examen microscopique qui précisera l'origine des réactions positives de la zone Sang.

-:-:-:-:-:-

VU, le Professeur de l'Ecole Vétérinaire, rapporteur,

Professeur GUELFI

VU, le Directeur de l'Ecole Vétérinaire,

Professeur LAUTIE

VU, le Président de la Thèse,

Professeur FEDOU

VU et permis d'imprimer,
TOULOUSE, le 14-4-1981
p/Le Président de l'Université Paul-Sabatier,
et par délégation le Vice-Président,

Professeur L. LARENG

BIBLIOGRAPHIE.

1 - BLOOM (F.). - L'urine du chien et du chat. Gamma publications Inc. N.Y. 1960.

2 - BUJON (B.). - Utilisation des bandelettes réactives pour l'examen biochimique des urines et du sang chez les carnivores domestiques. Thèse doct. Vét. Toulouse, 1970.

3 - CATCOTT (E.J.). - Feline Medicine and Surgery. American Vétérinary publications, 1964.

4 - CHARONNAT (R.), MIOCQUE (M.) - Sur la caractérisation enzymatique du glucose. Annales pharmaceutiques Françaises, 1957, (11), 15, 593.

5 - CHRISTOF (H.J.). - Précis de clinique féline. Vigot frères éditeurs, Paris, 1968.

6 - CLERC (B.). - La technique des prélèvements chez le chien et le chat. Bull. Assoc. Franç. microb. Immunol. 1973, (12), 25-30.

7 - COLIN (J.) & POLONOVSKI (C.). - Explorations biologiques en pédiatrie. Expansion scientifique Française, Paris, 1963.

8 - COURTOIS (J.E.), DEBRIS (M.M.).- Recherche sur la détection du sang dans l'urine à l'aide d'un papier réactif. Annales de biologie chimique, 1965, 23, 659.

9 - CROUCH (J.E.). - Text Atlas of cat anatomy. Lea and Felinger, Philadelphia, 1969.

10 - DREVON (B.), JANIER (C.). - Analyses biologiques accélérées. Emploi des comprimés et papiers réactifs dans la recherche accélérée des méliturie. Conservation, sensibilité, simplicité. Annales de biologie clinique, 1963, 5, 453.

11 - FRASER (J.), FETTER (M.C.), MAST (R.L.), FREE (A.H.). - Studiez with a simplified nitroprusside test for ketone bodies in urine, serum, plasma and milk. Clinica chemica acta, 1965, 11, 372.

12 - FREE (A.H.), FREE (H.M.). - A simple test for urine bilirubin. Gastroenterology, 1953, (3), 24, 414.

13 - FREE (H.M.), SHEBY (R.R.). - A comparative study of qualitative tests for ketones in urines and serum. Clinical chemistry, 1958, 4, 323.

14 - HAGER (C.B.), FREE (A.H.). - Urine urobilinogen as a component of routine urianalysis. American Journal of Medical Technology, 1970, (5), 36, 227.

15 - HAHN (G.). - Prüfung verschiedener schnellteste auf eiweic, blut, bilirubin, ketonkürper und pH wert im rinderharn. Thèse doct. Vét. Hanovre, 1968.

16 - HAMBURGER et Coll. - Revue du praticien, 1964.

17 - KELLY (W.R.). - Diagnostic clinique vétérinaire. Paris, Maloine, 1971.

18 - LEVASSEUR (G.). - Utilisation des bandelettes et comprimés réactifs dans l'examen biochimique rapide de l'urine des bovins. Thèse doct. Vét., Alfort, 1976.

19 - LOEB (W.F.), KNIPLING (G.D.). - Glycosurie in urethral obstruction. M.V.P., 1971, (52), 13, 40-41.

20 - LUNTZ (G.). - A simple quick test for glucose in urine. Report on use of Clinistix. British medical Journal, 1957, 3, 499.

21 - MORGAN (H.C.). - Urine chemistery I. Practitioner's Laboratory, 1967, (39), 75-77.

22 - OSBORNE (C.A.). - Antibacterial proportie of urine. Studies of feline urine. J.A.A.H.A., 1979, (15), 2.

23 - PAVAUX (C.). - Splanchnologie. Document polycopié, E.N.V.T. 1968.

24 - PIERARD (J.). - Anatomie appliquée des carnivores domestiques, chien et chat. Maloine, Paris, 1972.

25 - POLONOWSKI (M.), BOULANGER (P.), MACHEBOEUF (M.), ROCHE (J.), POLONOWSKI (J.). - Biochimie médicale. Fascicule III, Masson, Paris, 1963.

26 - RENNIE (I.D.B.), KEEN (H.). - Evaluation of clinical methode for detecting proteinurea. Lancet, 1967, 9, 489.

27 - RICO (A.G.). - Laboratoire central de biochimie. Document polycopié, E.N.V.T., 1973.

28 - RINSLER (M.G.), GRAY (C.H.). - Tests for blood in urine. American Journal of Clinical Pathology, 1957, 27, 589.

29 - SAUTOT - VIAL (A.). - Etude critique des papiers réactifs proposés sur le marché pour la recherche de certains composants de l'urine ou d'autres liquides biologiques. Thèse doct. pharm. Lyon, 1970.

30 - SCHUSTER (G.), PERLES (R.). - Réflexions sur les réactions accélérées en biologie ou la règle du jeu des petits papiers:
1) - Mélituries, glucose, glucose urinaire.
2) - Protéinuries, acétonuries, pigments biliaires.

Presse médicale, 1969, (10), 77, 359 et (11), 399.

31 - TALLACK (J.A.), SHERLOCK (S.). - A new tablet test for bilirubin in urine. British medical Journal, 1954.

32 - ULLRICH (K.). - Technique du prélèvement d'urine chez le chat. Kleint Prax, 1961, (6), 28.

33 - VELASQUEZ (F.D.R.), HERRERA (M.V.), MUSSMAN (H.C.). - Evaluation de las pruebas rapides Ames y su application en medecine veterinari. VII? Congresco Nacional de Medicina veterinaria y zootechnia. Ibagne, 1969.